Chemiczne podstawy podobnego działania fizjologicznego próchnicy oraz wyciągów wodnych z liści niektórych gatunków roślin

*Le fondement chimique de l'activité physiologique analogue de l'humus
et des extraits aqueux préparés de feuilles de quelquesunes espèces
végétales.*

S. GUMIŃSKI i Z. GUMIŃSKA

(Wpłynęło 24. IV. 53 r.)

W s t ę p.

Poprzednie nasze doświadczenia, zmierzające do wyjaśnienia fizjologicznej aktywności próchnicy przy niedostatku tlenu w podłożu, które ogłosiśmy w tymże piśmie (1953), skłoniły nas do wniosku, że efekt fizjologiczny próchnicy ma charakter witaminowy oraz że rośliny produkują w liściach pewne ergony, umożliwiające im rozwój w złych warunkach tlenowych podłoża. Konkluzja ta oparta była, między innymi, na fakcie, że podobną aktywność fizjologiczną jak próchnica wykazywały wyciągi wodne liści bukowych, sporządzone według przepisu na otrzymywanie biosów.

Wyłoniło się zatem zagadnienie czy istnieje wspólna podstawa chemiczna tej podobnej aktywności fizjologicznej oraz na czym ewentualne chemiczne podobieństwo obu czynnych substancji polega. W oparciu o wyniki poprzednich doświadczeń przyjęliśmy jako hipotezę roboczą, że obie substancje zawierają odwracalne układy oksydo-redukcyjne, ułatwiające oddychanie korzeni przy niedostatku tlenu w podłożu i że chodzi tu o witaminy prawdopodobnie z grupy B.

O p i s d o ś w i a d c e ń.

I. W pierwszym rzędzie postanowiliśmy przeprowadzić porównawcze doświadczenie wegetacyjne, które wykazałoby czy można używać przy pomocy wspomnianych witaminów podobny efekt fizjologiczny, jak przy działaniu próchnicy i wyciągów wodnych liści bukowych.

Prof. dr J. Czosnowski był tak uprzejmy, że nadesłał nam ze swej pracowni witaminy (firmy „Hofmann La Roche“) których posiadał pewien, konieczny dla swych bieżących prac badawczych, zapas. Za tę koleżeńską pomoc niechaj nam wolno będzie złożyć mu na tym miejscu należne podziękowanie.

Doświadczenie wegetacyjne z siewkami pomidorów nastawiliśmy według następującego planu:

A) Kultury wietrzzone.

1. Kontrola. 2. Próchnica (50 mg/l). 3. Laktoflawina (1 mg/l). 4. Biotyna ($1/100$ mg/l). 5. Kwas foliowy ($1/100$ mg/l). 6. Kwas pantotenowy ($1/5$ mg/l). 7. B₁₂ (2,5 γ/l). 8. Komplet w/w witamin + niacyna (1 mg/l), timina (1 mg/l) i Prydoksyna (1 mg/l). 9. Wyciąg z liści lilaka (*Syringa vulgaris*) (10 mg/l).

B) Kultury niewietrzzone.

Kombinacje identyczne, jak przy wietrzzonych.

W każdej kombinacji 5 powtórzeń.

Nie wprowadzono osobnych kombinacji dla PP, B₁ i B₆ dlatego, że wypróbowano je już z wynikiem negatywnym w poprzednio ogłoszonych doświadczeniach (1953) natomiast użyto ich obecnie w kombinacji kompleksowej. Próchnicę użyto w formie humianu sodowego, B₁₂ jako wyciąg z wątroby. W dawkowaniu witamin oparliśmy się na danych B e r a (1950) oraz na praktyce mikrobiologicznej. Ponieważ doświadczenie przeprowadzono w kwietniu, więc, w braku liści bukowych, użyto jako materiału do wyciągu wodnego z liści, tym razem szklarniowego lilaku. Sam wyciąg sporządzono stereotypową metodą, przez ekstrakcję liści wodą przez godzinę w temperaturze ok. +70°C. Siewki pomidorów umieszczono po 4 w $1\frac{1}{3}$ litrowych słojach z pożywką mineralną według Hampe i Truffaut (G u m i ń s k i 1950), tą samą, której używano w poprzednich doświadczeniach. Roślinki pozostawały zanurzone w pożywce po szyję korzeniową. W miarę wyparowywania i transpirowania wody dolewano pożywki do połowy rozcieńczonej. W kulturach niewietrzzonych zabieg ten był potrzebny zaledwie 2 razy; użyto wówczas wody świeżo przegotowanej. Wietrzenia dokonywano przez przelewanie słoju z pożywką 1 lub 2 × dziennie. Temperatura w szklarni wynosiła od 20 do 35 stopni C.

Doświadczenie trwało 3 tygodnie.

Różnice pomiędzy kulturami wietrzonymi i niewietrzonymi zaznały się po kilku dniach. Pierwsze rosły i rozwijały się doskonale a poszczególne kombinacje nie wykazywały żadnych różnic ani we wzroście ani w intensywności zieleni. Natomiast w kulturach niewietrzzonych rośliny rosły i wykazywały normalną zieleń jedynie w kombinacji z próch-

nicą — wszystkie inne pozostały małe i utraciły pierwotną zielen; liście pożółkły i pokryły się chorobliwymi plamami. Zamieszczona fotografia dość dobrze oddaje stan kultur przed likwidacją doświadczenia.

Fig. 1A. Kultury wietrzne — *Cultures aérées*.

1. Kontrola — *Contrôle*. 2. Próchnica — *L'humus*. 3. Laktoflawina — *Lactoflavine*. 4. Biotyna — *Biotine*. 5. Kwas foliowy — *Acide folique*. 6. Kwas pantotenowy — *Acide pantotenique*. 7. B₁₂. 8. Wyciąg z liści lilaka — *Extrait des feuilles de Syringa vulgaris*. 9. Komplet witamin w/w oraz B₁, B₆ i PP. — *Complet des vitamines mentionnés plus B₁, B₆ et PP*.

Fig. 1B. Kultury niewietrzne — *Cultures non aérées*.

0. Kontrola kultur wietrznych — *Contrôle des cultures aérées*. 1. Kontrola kultur niewietrznych — *Contrôle des cultures pas aérées*. 2. Próchnica — *L'humus*. 3. Laktoflawina — *Lactoflavine*. 4. Biotyna — *Biotine*. 5. Kwas foliowy — *Acide folique*. 6. Kwas pantotenowy — *Acide pantotenique*. 7. B₁₂. 8. Wyciąg z liści lilaka — *Extrait des feuilles du Syringa vulgaris*. 9. Komplet witamin w/w oraz B₁, B₆ i PP — *Complet des vitamines mentionnés plus B₁, B₆ et PP*.

Po trzech tygodniach wegetacji zważono suchą masę roślin. Wyniki przedstawia tabela:

TABELA I.

Porównanie działania próchnicy, witaminów z grupy B oraz wyciągu wodnego liści lilaka na siewki pomidorów. Comparaison de l'action de l'humus, des vitamines (groupe B) et de l'extrait aquatique des feuilles de *Syringa vulgaris* sur les jeunes plantes des tomates.

Rodzaj kultur Genre de culture	Waga suchej masy 4 roślin (z 1 słoja) w gramach Poids de la matière desechée (4 plantes d'un pot)		Współczynnik względem kontroli Coefficient en rapport du contrôle	
	Pędy Pousses	Korzenie Racines	Pędy Pousses	Korzen. Racines
A) Kultury wietrzone — Cultures aérées .				
1. Kontrola — Contrôle	1,61 ± 0,10	0,26 ± 0,02		
2. Próchnica — L'humus	1,55 ± 0,10	0,29 ± 0,03	1,0	1,1
3. Laktoflawina — Lactoflavine	1,27 ± 0,07	0,25 ± 0,02	0,7	1,0
4. Biotyna — Biotine	1,65 ± 0,16	0,28 ± 0,02	1,0	1,1
5. Kwas foliowy — L'acide folique	1,59 ± 0,11	0,25 ± 0,02	1,0	1,0
6. Kwas pantotenowy — L'acide pantoténique	1,28 ± 0,07	0,21 ± 0,01	0,7	0,8
7. B ₁₂	1,63 ± 0,10	0,30 ± 0,02	1,0	1,1
8. Komplet witamin w/w + niacyna, tiamina i pirydoksyna. Complet des vitamines citées au dessus + la niacine, la thiamine et de la pyridoxine	1,56 ± 0,12	0,29 ± 0,03	1,0	1,1
9. Wyciąg z liści lilaka	1,65 ± 0,16	0,29 ± 0,03	1,0	1,1
Extrait des feuilles de <i>Syringa vulgaris</i>				
B) Kultury niewietrzone — Cult. non aérées.				
1. Kontrola — Contrôle	0,35 ± 0,07	0,05 ± 0,01		
2. Próchnica — L'humus	1,86 ± 0,10	0,32 ± 0,01	5,3	6,4
3. Laktoflawina — Lactoflavine	0,54 ± 0,11	0,08 ± 0,03	1,5	1,6
4. Biotyna — Biotine	0,36 ± 0,06	0,08 ± 0,02	1,0	1,6
5. Kwas foliowy — L'acide folique	0,36 ± 0,07	0,08 ± 0,02	1,0	1,6
6. Kwas pantotenowy — L'acide pantoténique	0,33 ± 0,05	0,07 ± 0,01	0,9	1,4
7. B ₁₂	0,21 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,6	1,0
8. Komplet witamin w/w + niacyna, tiamina i pirydoksyna. Complet des vitamines citées haut desus + la niacine, la thiamine et de la pyridoxine	0,32 ± 0,03	0,07 ± 0,01	0,9	1,4
9. Wyciąg z liści lilaka	0,33 ± 0,06	0,07 ± 0,01	0,9	1,4
Extrait des feuilles de <i>Syringa vulg.</i>				

Nie tylko żadna z witamin z osobna i wszystkie razem jako zespół, ale też i wyciąg z liści lilaka okazały się w doświadczeniu nieczynne.

Jedynie próchnica umożliwiała rozwój roślin przy niedostatku tlenu w pożywce. Nieoczekiwany ten wynik zaskoczył nas zupełnie.¹

II. Należało wobec tego powtórzyć doświadczenie zeszłoroczne z wyciągiem z liści bukowych oraz wypróbować działanie wyciągów liści kilku co najmniej gatunków roślin. Założono więc doświadczenie wegetacyjne porównawcze z próchnicą i wyciągami z liści buka, dębu, lilaka, cibory (*Cyperus alternifolius* L.) pomidora i bukszpanu — ponadto użyto do doświadczenia wyciągu z bulwy ziemniaka oraz z drożdży. Próba z bukiem i lilakiem miała być powtórzeniem poprzednich doświadczeń; dąb wybraliśmy ze względu na garbniki, ciborę jako roślinę błotną, przystosowaną do złych warunków tlenowych podłoża; pomidor ponieważ na nim właśnie przeprowadza się doświadczenia, bukszpan zaś z tego względu, że roślina ta może służyć jako wskaźnik biosowy. Młode liście bukszpanu bowiem obfitują w biosy, podczas gdy liście stare (zeszłoroczne) są prawie zupełnie pozbawione biosów (R u g e 1947). Do doświadczenia użyto więc, dla porównania liści starych i młodych. Wyciąg z drożdży, sporządzony według Ruge'go, służyć miał jako źródło naturalnych biosów. Wreszcie wyciąg z bulwy ziemniaka zastosowano ze względu na poprzednie doświadczenia własne (1953) z kulturami ziemniaków, wyrosłych z bulwy oraz z nasienia.

Temperatura w szklarni była wyższa i dochodziła do 40°C; poza tym warunki były identyczne, jak w poprzednim doświadczeniu. Likwidacja po 3 tygodniach.

Już po 10 dniach można było stwierdzić wyraźnie, że w kulturach niewietrzonych rozwijają się rośliny jedynie w tych słojach, gdzie dodano próchnicy, albo wyciągu z liści buka, albo z liści dębu. Wyciągi z liści pomidora dawały słaby i nierówny efekt — inne substancje nie wykazały żadnej aktywności. W kulturach wietrzonych dał się zauważyć podobny, choć znacznie słabszy wpływ próchnicy i wyciągów z liści buka, dębu oraz lilaka.

Efekt w kulturach wietrzonych wytłumaczyć można niedostatkami tlenu pomimo wietrzenia, spowodowanym wysoką temperaturą.

Zamieszczona fotografia oraz tabela, podająca suchą masę roślin ilustrują opisany stan rzeczy po trzech tygodniach hodowli.

¹ Doświadczenie dodatkowe z dziesięciokrotną dawką witaminów potwierdziło ten wynik.

Fig. 2A. Kultury wietrzone — *Cultures aérées*.

1. Kontrola — *Contrôle*. 2. Drożdże — *Levure*. 3. Wyciąg z bulwy ziemniaka — *Extrait de la bulbe de la pomme de terre*. 4. Wyciąg z liści buka — *Extrait des feuilles du hêtre*. 5. Wyciąg z liści dębu — *Extrait des feuilles du chêne*. 6. Wyciąg z liści tegorocznych bukszpanu — *Extrait des feuilles du bois de cette année*. 7. Wyciąg z zeszłorocznych liści bukszpanu — *Extrait des feuilles du buis de l'autre année*. 8. Wyciąg z liści lilaka — *Extrait des feuilles de Syrina vulgaris*. 9. Wyciąg z liści cibory — *Extrait des feuilles de Cyperus alternifolius*. 10. Wyciąg z liści pomidora — *Extrait des feuilles de la tomate*. 11. Próchnica — *L'humus*. 12. Kontrola kultur niewietrznych. — *Contrôles des cultures non aérées*.

Fig. 2B. Kultury niewietrzone — *Cultures non aérées*.

1. Kontrola — *Contrôle*. 2. Drożdże — *Levure*. 3. Wyciąg z bulwy ziemniaka — *Extrait de la bulbe de la pomme de terre*. 4. Wyciąg z liści buka — *Extrait des feuilles du hêtre*. 5. Wyciąg z liści dębu — *Extrait des feuilles du chêne*. 6. Wyciąg z liści tegorocznych bukszpanu — *Extrait des feuilles, du buis de cette année*. 7. Wyciąg z zeszłorocznych liści bukszpanu — *Extrait des feuilles du buis de l'autre année*. 8 i 8a. Wyciąg z liści lilaka — *Extrait des feuilles de Syringa vulgaris*. 9. Wyciąg z liści cibory — *Extrait des feuilles de Cyperus alternifolius*. 10 i 10a. Wyciąg z liści pomidora — *Extrait des feuilles de la tomate*. 11. Próchnica — *L'humus*. 12. Kontrola kultur wietrzonych — *Contrôle des cultures aérées*.

TABELA II.

Porównanie działania próchnicy oraz wyciągów wodnych różnego materiału roślinnego. Comparaison de l'action de l'humus et des extraits aquatiques de divers matériaux végétales.

Rodzaj kultur Genre de culture	Waga suchej masy 4 roślin (z 1 sioja) w gramach, Poids de la matière dessechée (4 plantes d'un pot).		Współczynnik względem kontroli. Coefficient en rapport du contrôle.	
	Pędy Pousses	Korzenie Racines	Pędy Pousses	Korzen' Racines
A) Kultury wietrzone — Cultures aérées .				
1. Kontrola — Contrôle	0,66 ± 0,11	0,16 ± 0,02		
2. Próchnica — L'humus	1,60 ± 0,08	0,31 ± 0,03	2,4	1,9
3. Liście buka — Feuilles du hêtre . . .	1,56 ± 0,13	0,30 ± 0,03	2,4	1,9
4. Liście dębu — Feuilles du chêne . . .	1,42 ± 0,20	0,29 ± 0,04	2,1	1,8
5. Liście lilaka — Feuilles de Syringa vulgaris	1,53 ± 0,09	0,35 ± 0,07	2,4	2,2
6. Liście cibory — Feuilles de Cyperus alternifolius	0,82 ± 0,18	0,15 ± 0,04	1,2	0,9
7. Liście pomidora — Feuilles des tomates	1,05 ± 0,19	0,22 ± 0,04	1,6	1,6
8. L. bukszpanu młode — F. du buis (jeu- nes)	0,46 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,8	0,8
9. L. bukszpanu zeszłoroczne — F. du buis de l'autrè année	0,65 ± 0,14	0,14 ± 0,04	1,0	0,9
10. Bulwa ziemniaka — Bulbe de la pomme de terre	0,91 ± 0,20	0,20 ± 0,04	1,4	1,2
11. Drożdże — Levure	0,80 ± 0,13	0,19 ± 0,02	1,2	1,2
B) Kultury niewietrzone — Cultures non aérées.				
1. Kontrola — Contrôle	0,31 ± 0,05	0,11 ± 0,01		
2. Próchnica — L'humus	1,35 ± 0,15	0,27 ± 0,01	4,3	2,5
3. Liście buka — Feuilles du hêtre . . .	1,71 ± 0,13	0,30 ± 0,05	5,5	2,7
4. Liście dębu — Feuilles du chêne . . .	0,99 ± 0,13	0,19 ± 0,03	3,2	1,7
5. Liście lilaka — Feuilles de Syringa vulgaris	0,42 ± 0,13	0,10 ± 0,03	1,3	0,9
6. Liście cibory — Feuilles de Cyperus alternifolius	0,21 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,7	0,6
7. Liście pomidora — Feuilles des tomates	0,49 ± 0,13	0,12 ± 0,04	1,6	1,1
8. Liście bukszpanu młode — Feuilles du buis	0,22 ± 0,04	0,07 ± 0,01	0,7	0,7
9. Liście bukszpanu zeszłoroczne — Feu- illes du buis de l'autre année	0,26 ± 0,03	0,04 ± 0,01	0,8	0,4
10. Bulwa ziemniaka — Bulbe de pomme de terre	0,26 ± 0,06	0,05 ± 0,01	0,8	0,5
11. Drożdże — Levure	0,28 ± 0,04	0,09 ± 0,01	0,9	0,9

Analiza wyników liczbowych wykazuje, że substancje czynne zawarte są niewątpliwie w próchnicy oraz w wyciągach z liści bukowych i dębowych; wyciągi z liści lilaka o ile w ogóle zawierają substancje czynne, to działanie ich jest o wiele słabsze i ujawnia się jedynie przy małym niedostatku tlenu (kultury wietrzone). Ponieważ wyciągi z drożdży oraz młodych liści bukszpanu okazały się nieczynne, więc porzuciliśmy definitywnie myśl o biosach. Z kolei zwróciliśmy uwagę na garbniki i wielofenole. Powodem była zarówno idea chromogenów oddechowych Pałladina oraz osiągnięcia Wojciechowskiego (1949), jak też i wyniki własnych doświadczeń, wskazujące, iż substancje czynne zawierają wyciągi z liści bukowych i dębowych.

Przeprowadziliśmy jakościowe badania chemiczne wyciągów wodnych, sporządzonych z identycznych materiałów roślinnych, jakich używaliśmy poprzednio do doświadczeń wegetacyjnych. Reakcje z chlorkiem żelaza i następnie węglanem sodu a także amoniakiem oraz reakcje utlenienia tlenem powietrza w roztworze alkalicznym (NaOH) — wykazały obecność pirokatechiny w wyciągach z liści buka i lilaka, oraz kwasu gallusowego w wyciągu z liści dębu. Pozostałe wyciągi nie dały pozytywnych reakcji wielofenolowych z wymienionymi odczynnikami. Wynik ten, w zestawieniu z poprzednim doświadczeniem wegetacyjnym, potwierdził hipotezę wielofenolową, z tym jednak zastrzeżeniem, że niezrozumiała pozostała różnica w aktywności fizjologicznej pomiędzy wyciągami liści buka i lilaka, które dawały identyczne reakcje na pirokatechinę.

Wyciągi wszystkich badanych materiałów roślinnych, z wyjątkiem drożdży, pozostawione w otwartych kolbach przez kilka dni, przyjmowały mniej lub więcej ciemne barwy o różnych odcieniach. Najciemniejszą barwę przybierał wyciąg z pomidora i lilaka co nie pozostawało w żadnej korelacji z wynikiem doświadczenia wegetacyjnego. Po dwóch tygodniach, badając wyciągi powtórnie, zadano je kwasem solnym. Stwierdzono wówczas, że w wyciągach z liści bukowych oraz dębowych i tylko w nich, wytrącił się ciemny kłaczkowaty osad.

III. Opierając się na tych spostrzeżeniach oraz na wynikach Wojciechowskiego (1949), przystąpiono do doświadczenia wegetacyjnego z zastosowaniem produktów utlenienia pirokatechiny, kwasu gallusowego, gallotanniny oraz para-chinonu. Roztwory wodne (1 g na litr) tych związków zadawano kilkoma kroplami rozcieńczonego NaOH i wstrząsano. Przybierały wówczas momentalnie właściwą ciemną barwę: pirokatechina brunatną, kwas gallusowy ciemno-zieloną, gallotannina brunatną i chinon ciemno-brunatną prawie czarną. Połowę roztworu tak utlenionego (i spolimeryzowanego?) chinonu (polimer oksychinonu?) zadano kwasem solnym. Wytrącił się kłaczkowaty, koloidalny osad podobny

do naturalnego kwasu huminowego, czerwonawy roztwór ponad osadem, przypominający fulwokwasy, odsączono. Pozostały osad „sztucznego kwasu huminowego“ przemyto wodą i rozpuszczono w wodzie zadanej kilka kroplami rozcieńczonego NaOH.

Ponadto sporządzono „sztuczną próchnicę“ z glukozy i winianu amonowego według Nielsena-Harteliusa. Roztwór ogrzewany w autoklawie przez godzinę do temperatury 130°C miał typowy zapach oraz barwę karmelu.

Równocześnie ogrzewano w identyczny sposób część roztworu naturalnej próchnicy; chodziło w tym wypadku o sterylizację.

Istniała możliwość, że przy stosowaniu naturalnej próchnicy wprowadza się pewne mikroorganizmy, które ewentualnie mogłyby wpływać na rozwój roślin i tę możliwość chcieliśmy wykluczyć przez sterylizację.

Dodatkowo przygotowano: wyciąg z liści gruszy, wykazujący typową reakcję na pirokatechinę oraz roztwór kwasu l-askorbinowego.

Doświadczenie wegetacyjne z siewkami pomidorów nastawiono według następującego schematu: 1) Kontrola, 2) humian, 3) humian sterylizowany, 4) utleniona pirokatechina, 5) utleniony kwas gallusowy, 6) utl. gallotannina, 7) utl. chinon, 8) utl. i oczyszczony z „fulwokwasów“ chinon, 9) witamin C, 10) wyciąg z liści gruszy, 11) „sztuczna próchnica“ według Nielsena i Harteliusa.

Zarówno naturalne jak i sztuczne „próchnice“ dodawano do pożywki w ilości ok. 50 mg na litr. Jak zawsze połowę kultur wietrzono, połowę nie wietrzono. Temperatura w szklarni wynosiła 25—40°C.

W kulturach wietrzonych różnice w rozwoju roślin były niewielkie, natomiast w niewietrzonych w miarę czasu można było wyraźnie stwierdzić następujące różnice: Najlepiej rosły i zieleniły się rośliny w kombinacjach z dodatkiem naturalnej, sterylizowanej próchnicy oraz z „oczyszczaną“ „próchnicą“ sztuczną, sporządzoną z chinonu. Następnie dobrze rosły rośliny w kulturach z dodatkiem produktów utlenienia kwasu gallusowego oraz gallotanniny, wreszcie z naturalnym humianem a także sztucznym „humianem“ nie „oczyszczanym“, syntetyzowanym z chinonu. Rośliny w pozostałych kulturach były nikłe i chlorotyczne i nie różniły się wiele od roślin kontrolnych. Podobne różnice zaznaczyły się i w kulturach wietrzonych, jednak w znacznie zmniejszonej skali. Zauważono tutaj ponadto wyraźne zahamowanie we wzroście kultur z dodatkiem witaminu C oraz karmelu.

Fig. 3A. Kultury wietrzone — *Cultures aérées*.

0. Kontrola kultur niewietrzonych — *Contrôle des cultures non aérées*. 1. Kontrola kultur wietrzonych — *Contrôle des cultures aérées*. 2. Próchnica — *L'humus*. 3. Próchnica sterylizowana (autoklawowana) — *L'humus stérilisé dans l'autoclave*. 4. Utleniana pirokatechina. *Pyrocatechol oxygéné*. 5. Utleniany kwas gallusowy — *Acide gallique oxygéné*. 6. Utleniana tanina — *Tannine oxygénée*. 7. Sztuczna „próchnica“ z chinonu — *„L'humus“ artificiel de quinone*. 8. „Humian“ z chinonu oczyszczony — *„L'humate“ préparé de quinone et epuré*. 9. Witamin C — *Vitamine C*. 10. Wyciąg z liści gruszy — *Extrait des feuilles du poirier*. 11. Sztuczna „próchnica“ w/w Nielsena — *„L'humus artificiel d'après Nielsen*.

Obserwacje rozwoju kultur oraz analiza cyfr suchej masy wykazują, że za pomocą sztucznych „próchnic“ uzyskanych przez utlenienie (i polimeryzację) chinonu, kwasu gallusowego a także gallotaniny można osiągnąć podobny efekt fizjologiczny, jak przy użyciu naturalnej próchnicy czy wyciągów wodnych liści bukowych, względnie dębowych. Interesujące jest spostrzeżenie, że oczyszczenie sztucznego „humianu“ ze związków rozpuszczalnych w roztworze kwaśnym, odpowiadających naturalnym fulwokwasom, wzmacnia własności stymulujące tego „humianu“. Również podkreślić warto, że ogrzewanie naturalnej próchnicy przez godzinę w temp. 130°C wzmacnia znacznie jej własności stymulacyjne.

Produkty utlenienia pirokatechiny jak również wyciąg z liści gruszy, zawierający pirokatechinę nie zastępują próchnicy przy niedostatku tlenu w podłożu. Również sztuczna „próchnica“ Nielsena-Harteliusa nie stymuluje wzrostu roślin w tych warunkach. To samo odnosi się do witaminu C.

O m ó w i e n i e w y n i k ó w.

Z opisanych powyżej doświadczeń wynika, że za wspólną podstawę podobnej aktywności fizjologicznej próchnicy oraz wyciągów wodnych

Fig. 3B. Kultury niewietrzone — *Cultures non aérées*.

0. Kontrola kultur wietrzonych — *Contrôle des culture aérées*. 1. Kontrola kultur niewietrzonych — *Contrôle des cultures non aérées*. 2. Próchnica — *L'humus*. 3. Próchnica sterylizowana (autoklawowana) — *L'humus stérilisé dans l'autoclave*. 4. Utleniana pirokatechina. *Pyrocetechol oxygené*. 5. Utleniany kwas gallusowy — *Acide gallique oxygené*. 6. Utleniana tanina — *Tannine oxygené*. 7. Sztuczna „próchnica“ z chinonu — „*L'humus*“ *artificiel préparé de quinone*. 8. „Humian“ z chinonu oczyszczony — „*L'humate*“ *préparé de quinone et épuré*. 9. Witamin C — *Vitamine C*. 10. Wyciąg z liści gruszy — *Extrait des feuilles du poirier*. 11. Sztuczna „próchnica“ w/g Nielsena — „*L'humus*“ *artificiel d'après Nielsen*.

liści bukowych i dębowych należałoby przyjąć utlenione (i spolimeryzowane?) wielofenole. Że utleniony tlenem powietrza w roztworze alkalicznym p-chinon daje związki podobne do próchnicy, wiemy już od czasu badań Woskressenskigo (1845); że zaś próchnica naturalna istotnie jest polimeronem oksychinonu usiłuje udowodnić w swej pracy (1920-23) Eller. Wyniki naszych doświadczeń podobnie jak wyniki Wojciechowskiego (1949), popierają jego teorię na polu fizjologii roślin.

Aktywność fizjologiczną wyciągów wodnych liści dębowych należy przypisać, zgodnie z wynikami doświadczeń, obecności w tych wyciągach kwasu gallusowego względnie gallotaniny. Ze względu na bliskie pokrewieństwo chemiczne kwasu gallusowego z pirogalleolem, wynik ten bynajmniej nie wydaje się dziwny.

Mniej oczywista jest rola wielofenoli w wyciągach z liści bukowych. Wyciągi te dają reakcje na pirokatechinę, a doświadczenia wegetacyjne wykazują, że zarówno zawierające pirokatechinę ekstrakty z liści lilaka oraz gruszy, jak też i produkty utlenienia samej pirokatechiny nie wyrównują braku tlenu w pożywce, podczas gdy wyciągi bukowe działają znakomicie. Ponieważ jednak wyciągi bukowe (podobnie jak dębowe) po dłuższym okresie działania tlenu powietrza (w roztworze obojętnym) dają

TABELA III.

Porównanie działania próchnicy naturalnej, tzw. „sztucznych próchnic“ witaminu C, oraz wyciągu z liści gruszy. Comparaison de l'action de l'humus naturel, des l'humuses artificiels, du vitamine C et d'extrait aqueux de feuilles du poirier.

Rodzaj kultur Genre de culture	Waga suchej masy roślin (z 1 słoja) w gramach Poids de la matière desechée en g.		Współczynnik względem kontroli Coefficient en rapport du contrôle	
	Pędy Pousses	Korzenie Racines	Pędy Pousses	Korzen. Racines
A) <i>Kultury wietrzne — Cult. aérées.</i>				
1. Kontrola — Contrôle	0,36 ± 0,04	0,11 ± 0,01		
2. Humian naturalny — L'humate naturel	0,65 ± 0,07	0,18 ± 0,02	1,8	1,6
3. Humian sterylizowany (naturalny) — L'humate naturel stérilisé	0,72 ± 0,09	0,20 ± 0,03	2,0	1,8
4. „Próchnica“ sztuczna z pirokatechniny. — L'humus“ artificiel de pyrocatecholé	0,27 ± 0,02	0,07 ± 0,02	0,8	0,7
5. Produkt utlenienia kwasu gallusowe- go — Produit d'oxydation de l'acide gallique	0,87 ± 0,06	0,22 ± 0,02	2,4	2,0
6. Utleniona gallotanina — Gallotannine oxygénée	0,67 ± 0,06	0,17 ± 0,01	1,9	1,5
7. „Próchnica“ sztuczna z chinonu — „L'humus“ artificiel de quinone	0,75 ± 0,07	0,29 ± 0,07	2,1	2,6
8. „Humian“ oczyszczony z chinonu — „L'humate“ de quinone, épuré	0,66 ± 0,09	0,15 ± 0,02	1,8	1,4
9. Witamina C — Vitamine C	0,27 ± 0,10	0,06 ± 0,01	0,8	0,5
10. Wyciąg z liści gruszy — Extrait de feuilles du poirier	0,43 ± 0,04	0,12 ± 0,02	1,2	1,1
11. „Sztuczna próchnica“ Nielsena — „L'humus“ artificiel après Nielsen . .	0,39 ± 0,13	0,11 ± 0,03	1,1	1,0
B) <i>Kultury niewietrzne. — Cult. non aérées.</i>				
1. Kontrola — Contrôle	0,09 ± 0,00	0,02 ± 0,01		
2. Humian naturalny — L'humate naturel	0,28 ± 0,04	0,07 ± 0,01	3,1	3,5
3. Humian sterylizowany (naturalny) — L'humate stérilisé (naturel)	0,74 ± 0,11	0,11 ± 0,02	8,2	5,5
4. „Próchnica“ sztuczna z pirokatechniny — „L'humus“ artificiel de pyrocatecholé	0,18 ± 0,03	0,04 ± 0,00	2,0	2,0
5. Produkt utlenienia kwasu gallusowego — Produit d'oxydation de l'acide gal- lique	0,58 ± 0,06	0,08 ± 0,01	6,4	4,0
6. Utleniona gallotanina — Gallotannine oxygénée	0,65 ± 0,06	0,11 ± 0,02	7,2	5,5
7. „Próchnica“ sztuczna z chinonu — „L'humus“ artificiel de quinone	0,48 ± 0,06	0,09 ± 0,01	5,3	4,5
8. Humian z chinonu, oczyszczony — L'humate de quinone, épuré	0,79 ± 0,08	0,15 ± 0,01	8,8	7,5
9. Witamin C — Vitamine C	0,11 ± 0,02	0,02 ± 0,00	1,2	1,0
10. Wyciąg z liści gruszy — Extrait de feuilles du poirier	0,18 ± 0,03	0,03 ± 0,00	2,0	1,5
11. „Sztuczna próchnica“ Nielsena — „L'humus“ artificiel après Nielsen . .	0,12 ± 0,01	0,02 ± 0,00	1,3	1,0

z kwasem solnym osad podobny do naturalnych kwasów huminowych i ponieważ sztuczna „próchnica“ z chinonu wytrącona kwasem solnym i oddzielona od „fulwokwasów“ jest znacznie bardziej aktywna niż nie „oczyszczona“, więc być może, na tego rodzaju własnościach polega różnica pomiędzy wyciągiem z liści bukowych i wyciągami z liści lilaka oraz gruszy jak również produktami utlenienia samej pirokatechiny. Jest bardzo prawdopodobne, że pirokatechina w liściach bukowych występuje w związkach łatwiej się utleniających lub łatwiej polimeryzujących. Być może jest to flobotanina.

Wniosków powyższych nie należy zbyt uogólniać. Różne gatunki roślin mogą niejednakowo reagować na tego rodzaju substancje — niekoniecznie tak, jak siewki pomidora. Także i stadium rozwojowe rośliny może mieć duże znaczenie w reakcji fizjologicznej rośliny na omawiane substancje — wskazują na to wyraźnie wyniki poprzednio ogłoszonych doświadczeń (1953). Jednakże spostrzeżenia w niniejszej pracy omówione nie popierają poprzednio przez nas wypowiedzianego przypuszczenia, „jakoby rośliny wytwarzały we własnych liściach ergony, które w późniejszych fazach rozwojowych ułatwiają oddychanie ich korzeniom“. Wyciąg z liści pomidora wywarł w kulturach siewek tego gatunku bardzo słaby efekt. Przy tym pamiętać należy, że wszystkie związki czynne tak naturalnie, jak i sztuczne, dodawane były do pożywek w formie utlenionej i zapewne spolimeryzowanej podczas gdy w tkankach występują zasadniczo w formie zredukowanej i utleniane być mogą w końcowej fazie oddychania, prawdopodobnie jedynie tlenem powietrza, a zatem dostęp tlenu dla ich aktywności fizjologicznej powinien być raczej obfity. Ponieważ zaś dodawane przez nas do pożywek utlenione wielofenole czynne są specyficznie przy niedostatku tlenu, nasuwa się przypuszczenie, że są one akceptorami wodoru oddawanego przez korzenie w procesie oddychania. Nie przesądzając wyniku dalszych zamierzonych badań, podnieść należy, że tego rodzaju metabolizm poza tlenowy właściwy jest wielu mikroorganizmom. Na podstawie praktyki rolniczej i ogrodniczej przypuszczać można, że takim akceptorem wodoru dla korzeni roślin jest próchnica, a zwłaszcza próchnica powstała z liści bukowych.

W praktyce ogrodniczej utarło się przekonanie, że tzw. „ziemia liściowa“ z liści bukowych jest najlepsza. Niniejsza praca dostarcza podstawy teoretycznej dla tego powszechnego przekonania praktycznego.

RESUMÉ

On a constaté dans des recherches précédentes, que les solutions aqueuses colloïdales de l'humus rendent possible le développement de jeunes plantes de tomates en cas de manque d'oxygène dans les cultures à l'eau. On a démontré en même temps que dans les milieux qui sont bien

aérés l'humus ne manifeste point d'activité physiologique. Ensuite on a remarqué que l'extrait aqueux des feuilles de hêtre, de même que l'humus, fait possible le développement des plantes dans les milieux de culture insuffisamment pourvus d'oxygène (1953).

Diverses sortes d'extraits humiques de compost deployaient différents degrés d'activité. Dans nos expériences l'humate préparé de la bourbe curative de Krynica s'est montré le plus actif (1950).

Maintenant on a tâché de découvrir une base chimique commune de ces substances qui se ressemblent par leur activité physiologique. Vu le caractère de leur action, les systèmes redoxes, dont on y supposait la présence, firent l'objet de notre attention particulière. Comme l'extrait actif des feuilles de hêtre était reçu par la méthode habituelle usitée pour obtenir les bios (on extrayait durant une heure dans l'eau à la température de 70°C à peu près), on a employé avant tout dans les expériences les vitamines du groupe B.

On a exécuté les expériences de cette manière, qu'on comparait l'action de l'humate de la bourbe, des extraits de différentes feuilles, de celui de la levure, et de suivantes vitamines particulières: la thiamine, la pyridoxyne, la lactoflavine, la biotine, la niacine, l'acide folique, l'acide panthoténique, B₁₂, ainsi que de toutes les vitamines nommés prises ensemble. Dans les milieux de culture aérés aucune des substances examinées ne provoquait une stimulation du développement des pousses de tomates qui dépasserait distinctement les bornes d'une erreur expérimentale, tandis que dans les milieux non aérés on a obtenu un accroissement du poids sec très considérable (de plusieurs fois) sous l'influence de l'humate, de l'extrait des feuilles de hêtre et de chêne. Le supplément d'une petite quantité de la solution des humates ou bien de l'extrait des feuilles de hêtre ou de chêne au liquide nutritif, qui manquait d'oxygène produisait des effets non plus quantitatifs mais qualitatifs, puisque la subsistance et le développement suivant des poussés dépendait de la présence de ces matières.

On employa dans les expériences les extraits des feuilles de suivantes espèces de plantes: le hêtre, le chêne, le lilas, le ciperus, la tomate et le buis. (on a usé les extraits des feuilles de buis de l'année précédente et des jeunes — ceci en égard aux bios). Comme on a déjà dit il n'y a que les extraits de hêtre et de chêne que se sont montrés décidément actifs de manière physiologique — les autres extraits n'ont pas donné de résultats positifs (le lilas a donné un résultat incertain).

Puisqu'on concluait des expériences qu'on ne peut pas chercher la cause de l'activité de l'humus ni des extraits de feuilles du hêtre et du chêne parmi les bios connus, donc en suivant les recherches de W o j c i e c h o w s k i (1949) on a dirigé l'attention sur les polyphénols végétaux. On

a constaté que de tous les extraits examinés il n'y a que ceux du hêtre, du chêne, et du lilas qui produisent des réactions typiques pour les phénols et leurs dérivants. En conséquence on a opéré des expériences comparatives pareilles aux précédentes avec les produits d'oxydation, de la pyrocatechine, de l'acide gallique, de la tannine et du quinone avec l'humate chauffé durant une heure à la température de 130°C et enfin avec l'humus artificiel de Nielsen et Hartelius (1932). Toutes ces substances étaient plus ou moins proches aux matières humiques naturelles.

L'expérience démontra que, dans les conditions où la quantité d'oxygène dans le milieu de culture est insuffisante les produits d'oxydation du quinone, de l'acide gallique, de la tannine et l'humate naturel chauffé jusqu' à 130°C rendent possible un développement exubérant des pousses de tomates. L'humate non chauffé agissait plus faiblement, la pyrocatechine oxidée-beaucoup plus faiblement. Dans notre expérience les plantes du contrôle ainsi que celles, qui ont reçu une dose de l'humus artificiel de Nielsen et Hartelius (la glucose carmélisée + l'ammonium-tartrate) ne se développaient point (à défaut d'oxygène dans le milieu de culture).

De ces faits il devient clair, que l'activité physiologique aussi bien de l'humus que des extraits aqueux des feuilles du hêtre et du chêne est due aux propriétés d'oxydoréduction des systèmes quinoïdes.

Les expériences décrites ci-dessus font une preuve de plus en faveur des vues de Eller et de Wojciechowski concernant la structure quinoïde de l'humus naturel. En même temps le rôle des phénols dans les organismes végétaux apparait sous un nouvel aspect.

CYTOWANA LITERATURA.

1. Ber A., 1950. Hormony wzrostu roślin zielonych, grzybów i bakterii. 377 str. Warszawa, Książka i Wiedza.
2. Eller W. u. Koch K., 1920. Ber. dtsch. Chem. Ges. 53: 1469—76.
3. Eller W., 1921. Brennstoff-Chemie 2: 129—33.
4. Eller W., 1923. Liebigs Ann. 431: 133—61.
5. Gumiński S., 1950. Acta Soc. Bot. Pol. 20: 589—620.
6. Gumiński S. i Gumińska Z., 1953. Acta Soc. Bot. Pol. 22: 45—63.
7. Nielsen N. u. Hartelius V., 1932. Biochem. Z. 256: 2—10.
8. Ruge U., 1947. Uebungen zur Wachstum-u. Entwicklungsphysiologie, d. Pflanze. 164 str. Berlin-Göttingen, Springer-Verlag.
9. Wojciechowski J. i Jeske G., 1949. Sprawozd. Pozn. Tow. Przyj. Nauk T. XVI.
10. Woskressensky A., 1845. J. pr. Chem. (1) 34: 251—254.